



Minyak goreng sawit



© BSN 2012

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Manggala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup	1
2 Acuan normatif.....	1
3 Istilah dan definisi	1
4 Komposisi	1
5 Syarat mutu.....	1
6 Pengambilan contoh	2
7 Cara uji	2
8 Syarat lulus uji.....	2
9 Higiene.....	3
10 Pengemasan.....	3
11 Syarat penandaan	3
Lampiran A (normatif) Cara uji minyak goreng sawit.....	4
Bibliografi	25

Prakata

Standar Nasional Indonesia (SNI) Minyak goreng sawit ini merupakan SNI baru. Standar ini dirumuskan dengan tujuan sebagai berikut:

- Melindungi konsumen;
- Menjamin perdagangan pangan yang jujur dan bertanggung jawab;
- Mendukung perkembangan dan diversifikasi produk industri minyak goreng sawit; dan
- Meningkatkan gizi masyarakat melalui fortifikasi vitamin.

Standar ini dirumuskan dengan memperhatikan ketentuan pada :

1. Undang-Undang Republik Indonesia No. 5 Tahun 1984 tentang Perindustrian.
2. Undang-Undang Republik Indonesia No. 7 Tahun 1996 tentang Pangan.
3. Undang-Undang Republik Indonesia No. 8 Tahun 1999 tentang Perlindungan Konsumen.
4. Undang-Undang Republik Indonesia No. 36 Tahun 2009 tentang Kesehatan.
5. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 69 Tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan.
6. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 28 Tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu dan Gizi Pangan.
7. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 722/MENKES/PER/IX/1988, tentang Bahan Tambahan Makanan atau revisinya.
8. Peraturan Menteri Perindustrian Republik Indonesia No. 24/M-IND/PER/2/2010 tentang Pencantuman Logo Tara Pangan dan Kode Daur Ulang pada Kemasan Pangan dari Plastik.
9. Peraturan Menteri Perindustrian Republik Indonesia No. 75/M-IND/PER/7/2010 tentang Pedoman Cara Produksi Pangan Olahan yang Baik (*Good Manufacturing Practices*).
10. Surat Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. HK.00.05.52.4040 Tahun 2006 tentang Kategori Pangan.
11. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. HK.00.06.1.52.4011 Tahun 2009 tentang Penetapan Batas Maksimum Cemarkan Mikroba dan Kimia dalam Makanan.

Standar ini dirumuskan oleh Panitia Teknis 67-04, Makanan dan Minuman, Kementerian Perindustrian, yang telah dibahas melalui rapat teknis, dan disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 11 Oktober 2010 di Jakarta. Hadir dalam rapat tersebut wakil dari konsumen, produsen, lembaga pengujian, lembaga ilmu pengetahuan dan teknologi, Badan Pengawas Obat dan Makanan dan instansi terkait lainnya.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 13 April 2011 sampai dengan tanggal 12 Juni 2011 dan Pemungutan suara pada tanggal 24 Oktober 2011 sampai dengan 23 Desember 2011 dengan hasil akhir RASNI.

Minyak goreng sawit

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan istilah dan definisi, syarat mutu, pengambilan contoh, dan cara uji minyak goreng sawit.

2 Acuan normatif

SNI 0429, *Petunjuk pengambilan contoh cairan dan semi padat*

3 Istilah dan definisi

minyak goreng sawit

bahan pangan dengan komposisi utama trigliserida berasal dari minyak sawit, dengan atau tanpa perubahan kimiawi, termasuk hidrogenasi, pendinginan dan telah melalui proses pemurnian dengan penambahan vitamin A.

4 Komposisi

4.1 Bahan baku

minyak sawit

4.2 Bahan tambahan pangan

bahan tambahan pangan yang diijinkan untuk minyak goreng sawit sesuai dengan ketentuan yang berlaku

5 Syarat mutu

Syarat mutu minyak goreng sawit sesuai Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1 - Syarat mutu minyak goreng sawit

No	Kriteria uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Bau	-	normal
1.2	Rasa	-	normal
1.3	Warna (<i>lovibond 5,25" cell</i>)	merah/kuning	maks. 5,0/50
2	Kadar air dan bahan menguap (b/b)	%	maks. 0,1
3	Asam lemak bebas (dihitung sebagai asam palmitat)	%	maks. 0,3

Tabel 1 (lanjutan)

No	Kriteria uji	Satuan	Persyaratan
4	Bilangan peroksida	mek O ₂ /kg	maks. 10*
5	Vitamin A	IU/g	min. 45*
6	Minyak pelikan		negatif
7	Cemaran logam		
7.1	Kadmium (Cd)	mg/kg	maks. 0,2
7.2	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0,1
7.3	Timah (Sn)	mg/kg	maks. 40,0/250,0**
7.4	Merkuri (Hg)	mg/kg	maks. 0,05
8	Cemaran arsen (As)	mg/kg	maks. 0,1
CATATAN * pengambilan contoh di pabrik ** dalam kemasan kaleng			

6 Pengambilan contoh

Cara pengambilan contoh sesuai dengan SNI 0429.

7 Cara uji

Cara uji untuk minyak goreng sawit seperti di bawah ini:

- Persiapan contoh sesuai Lampiran A.1;
- Cara uji keadaan sesuai Lampiran A.2;
 - Cara uji bau sesuai Lampiran A.2.1
 - Cara uji rasa sesuai Lampiran A.2.2
 - Cara uji warna (*lovibond 5,25" cell*) sesuai Lampiran A.2.3
- Cara uji kadar air dan bahan menguap sesuai Lampiran A.3;
- Cara uji asam lemak bebas (dihitung sebagai asam palmitat) sesuai Lampiran A.4;
- Cara uji bilangan peroksida sesuai Lampiran A.5;
- Cara uji vitamin A sesuai Lampiran A.6;
- Cara uji minyak pelikan sesuai Lampiran A.7;
- Cara uji cemaran logam sesuai Lampiran A.8;
 - Cara uji kadmium (Cd) dan timbal (Pb) sesuai Lampiran A.8.1
 - Cara uji timah (Sn) sesuai Lampiran A.8.2
 - Cara uji merkuri (Hg) sesuai Lampiran A.8.3
- Cara uji cemaran arsen (As) sesuai Lampiran A.9;

8 Syarat lulus uji

Produk dinyatakan lulus uji apabila memenuhi syarat mutu sesuai Pasal 5.

9 Higiene

Cara memproduksi produk yang higienis termasuk cara penyiapan dan penanganannya sesuai dengan ketentuan yang berlaku tentang Pedoman Cara Produksi Pangan Olahan yang Baik.

10 Pengemasan

Produk dikemas dalam wadah yang tertutup rapat, tidak dipengaruhi atau mempengaruhi isi, aman selama penyimpanan dan pengangkutan.

11 Syarat penandaan

Syarat penandaan sesuai dengan ketentuan yang berlaku tentang label dan iklan pangan.



Lampiran A
(normatif)
Cara uji minyak goreng sawit

A.1 Persiapan contoh

Persiapan contoh terdiri atas persiapan contoh untuk uji organoleptik dan uji kimia. Pengambilan contoh uji organoleptik dilakukan pertama, kemudian dilanjutkan dengan pengambilan contoh untuk uji kimia.

A.1.1 Persiapan contoh untuk uji organoleptik

Buka kemasan contoh minyak goreng sawit dan ambil contoh secukupnya kemudian tempatkan dalam botol contoh yang bersih dan kering.

A.1.2 Persiapan contoh untuk uji kimia

Buka kemasan contoh minyak goreng sawit dan ambil contoh sebanyak 250 g sampai dengan 500 g kemudian tempatkan dalam botol contoh yang bersih dan kering.

A.2 Keadaan

A.2.1 Bau

A.2.1.1 Prinsip

Pengamatan contoh uji dengan indera penciuman yang dilakukan oleh panelis yang terlatih atau kompeten untuk pengujian organoleptik.

A.2.1.2 Cara kerja

- a) Ambil contoh uji secukupnya dan letakkan di atas gelas arloji yang bersih dan kering;
- b) cium contoh uji untuk mengetahui baunya; dan
- c) lakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis yang terlatih atau 1 orang tenaga ahli.

A.2.1.3 Cara menyatakan hasil

- a) Jika tercium bau khas minyak goreng sawit, maka hasil dinyatakan "normal"; dan
- b) jika tercium selain bau khas minyak goreng sawit, maka hasil dinyatakan "tidak normal".

A.2.2 Rasa

A.2.2.1 Prinsip

Pengamatan contoh uji dengan indera pengecap (lidah) yang dilakukan oleh panelis yang terlatih atau kompeten untuk pengujian organoleptik.

A.2.2.2 Cara kerja

- a) Ambil contoh uji secukupnya dan rasakan dengan indera pengecap (lidah); dan

- b) lakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis yang terlatih atau 1 orang tenaga ahli.

A.2.2.3 Cara menyatakan hasil

- a) Jika terasa khas minyak goreng sawit, maka hasil dinyatakan “normal”; dan
b) jika tidak terasa khas minyak goreng sawit, maka hasil dinyatakan “tidak normal”.

A.2.3 Warna

A.2.3.1 Prinsip

Pengukuran kepekatan warna minyak goreng sawit dengan merujuk kepada perpaduan warna merah (*red*), dan kuning (*yellow*) menggunakan alat Lovibond Tintometer.

A.2.3.2 Peralatan

- a) Lovibond Tintometer yang dilengkapi dengan skala warna:
– Merah : 0,1 - 0,9; 1,0 - 9,0; 10,0 - 70,0
– Kuning : 0,1 - 0,9; 1,0 - 9,0; 10,0 - 70,0

- b) Kuvet (cell) 5,25

A.2.3.3 Cara kerja

- a) Tambah 0,5 g tanah diatome (*diatomaceous earth*) ke dalam 300 g contoh uji, kocok selama 2,5 menit pada 250 rpm, kemudian saring dengan kertas saring.
b) Isi 2/3 kuvet dengan contoh uji (hasil saringan), lalu letakkan di dalam *cell holder* Lovibond dan tutup;
c) amati melalui lubang pengintai, ukur warna contoh uji dengan cara menyamakan warna pada sisi sebelah kanan dengan sisi sebelah kiri;
d) lakukan penyamaan warna dengan cara menggeser-geser tombol-tombol dari filter warna standar yang tersedia;
e) penetapan dilakukan sekurang-kurangnya duplo;
f) khusus untuk peralatan yang pengukurannya dilakukan secara manual, lakukan pembacaan sekurang-kurangnya oleh 2 operator terlatih dengan menggunakan alat dan pada laboratorium yang sama. Perbedaan hasil uji tidak boleh melebihi angka di bawah ini:
Baca warna:
– < 0,9 R : 0,2 R
– 1,0 – 2,9 R: 0,4 R
– 3,0 – 4,0 R: 0,5 R
– 4,1 – 12 R: 1,0 R

A.2.3.4 Cara menyatakan hasil

Warna yang dibaca dalam angka skala merah dinyatakan R, dan dalam angka skala kuning dinyatakan Y.

A.3 Kadar air dan bahan menguap

A.3.1 Prinsip

Kadar air dan bahan menguap dihitung berdasarkan bobot yang hilang selama pemanasan dalam oven pada suhu $(130 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

A.3.2 Peralatan

- Oven terkalibrasi dengan ketelitian $1 ^\circ\text{C}$;
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- desikator yang berisi desikan; dan
- pinggan alumunium bertutup diameter 50 mm, tinggi 20 mm

A.3.3 Cara kerja

- Panaskan pinggan beserta tutupnya dalam oven pada suhu $(130 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama kurang lebih 30 menit dan dinginkan dalam desikator selama 20 menit sampai dengan 30 menit, kemudian timbang dengan neraca analitik (W_0);
- masukkan 2 g contoh ke dalam pinggan, tutup, dan timbang (W_1);
- panaskan pinggan yang berisi contoh tersebut dalam keadaan terbuka dengan meletakkan tutup pinggan disamping pinggan di dalam oven pada suhu $(130 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama 30 menit setelah suhu oven $(130 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- tutup pinggan ketika masih di dalam oven, pindahkan segera ke dalam desikator dan dinginkan selama 20 menit sampai dengan 30 menit sehingga suhunya sama dengan suhu ruang kemudian timbang (W_2);
- lakukan pekerjaan c) dan d) hingga diperoleh bobot tetap; dan
- hitung kadar air dan bahan menguap dalam contoh.

A.3.4 Perhitungan

$$\text{Kadar air dan bahan menguap (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100 \%$$

Keterangan:

W_0 adalah bobot pinggan kosong dan tutupnya, dinyatakan dalam gram (g);

W_1 adalah bobot pinggan, tutupnya dan contoh sebelum dikeringkan, dinyatakan dalam gram (g);

W_2 adalah bobot pinggan, tutupnya dan contoh setelah dikeringkan, dinyatakan dalam gram (g).

A.3.5 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 10 % dari nilai rata-rata hasil kadar air dan bahan menguap. Jika kisaran lebih besar dari 10 %, maka uji harus diulang kembali.

A.4 Asam lemak bebas (dihitung sebagai asam palmitat)

A.4.1 Prinsip

Pelarutan contoh dalam pelarut organik dan dinetralkan dengan larutan basa (kalium hidroksida atau sodium hidroksida).

A.4.2 Peralatan

- Neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- buret 10 mL atau 50 mL, terkalibrasi; dan
- Erlenmeyer kapasitas 250 mL.
- Labu ukur 100 mL terkalibrasi; dan
- Gelas ukur 50 ml terkalibrasi

A.4.3 Pereaksi

- Etanol 95 %;
Etanol 95 % ditambah dengan beberapa tetes indikator fenolftalein dan di titar dengan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah muda;
- indikator fenolftalein (pp) 1 % dalam etanol 95 %;
larutkan 1,0 g fenolftalein dengan etanol 95 % ke dalam labu ukur 100 mL kemudian tepatkan sampai tanda garis; dan
- larutan standardisasi kalium hidroksida, KOH 0,1 N atau larutan natrium hidroksida, NaOH 0,1 N dalam etanol.

A.4.4 Cara kerja

- Timbang 10 g sampai dengan 50 g contoh (W) ke dalam Erlenmeyer.
- larutkan dengan 50 mL etanol hangat dan tambahkan 5 tetes larutan fenolftalein sebagai indikator;
- titrasi larutan tersebut dengan kalium hidroksida atau sodium hidroksida 0,1 N (N) sampai terbentuk warna merah muda. (Warna merah muda bertahan selama 30 detik.)
- lakukan pengadukan dengan cara menggoyangkan Erlenmeyer selama titrasi.
- catat volume larutan KOH atau NaOH yang diperlukan (V).

A.4.5 Perhitungan

$$\text{Asam lemak bebas (sebagai asam palmitat)} = \frac{25.6 \times V \times N}{W}$$

Keterangan:

- V adalah volume larutan KOH atau NaOH yang diperlukan, dinyatakan dalam mililiter (mL);
N adalah normalitas larutan KOH atau NaOH, dinyatakan dalam normalitas (N)
W adalah bobot contoh yang diuji, dinyatakan dalam gram (g).

A.4.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 10 % dari nilai rata-rata hasil asam lemak bebas (sebagai asam palmitat). Jika kisaran lebih besar dari 10 %, maka uji harus diulang kembali.

A.5 Bilangan peroksida

A.5.1 Prinsip

Kalium iodida yang ditambahkan berlebih ke dalam contoh akan bereaksi dengan peroksida yang ada pada lemak atau minyak. Banyaknya iod yang dibebaskan dititrasasi dengan larutan standar tiosulfat menggunakan indikator kanji.

A.5.2 Peralatan

- Neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian minimal 0,1 mg;
- erlenmeyer 250 mL bertutup asah;
- pipet gondok 25 mL, terkalibrasi;
- labu ukur 100 mL dan labu ukur 1 L, terkalibrasi;
- pipet volume 1 mL, terkalibrasi
- gelas piala
- gelas ukur 100 mL, terkalibrasi
- Erlenmeyer 500 mL

A.5.3 Pereaksi

- larutan asam asetat-Isoktan
buat campuran asam asetat glasial dan isoktan 3:2 (v/v)
- larutan kalium iodida jenuh
larutkan kalium iodida p.a dalam air suling yang baru mendidih hingga kondisi jenuh (adanya kristal KI yang tidak larut). Larutan ini harus disiapkan setiap kali akan melakukan pengujian.
- larutan standar natrium tiosulfat 0,1 N
timbang 24,9 gram natrium tiosulfat kemudian larutkan dengan air suling bebas CO₂ dalam gelas piala. Masukkan ke dalam labu ukur 1 L kemudian tera dan impitkan, tetapkan normalitas larutan tersebut.
- penetapan larutan standar natrium tiosulfat 0,1 N
 - Timbang 0,05 sampai dengan 0,1 gram kalium iodat (KIO₃) kering, larutkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL dengan air suling sebanyak 50 mL, tambahkan 10 mL kalium iodida 20% dan 2,5 mL HCl 4 N, iod yang dibebaskan dititrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 N yang akan distandardisasi sampai larutan berwarna kuning, tambahkan 2 sampai dengan 3 mL larutan kanji 1 % dan titrasi dilanjutkan sampai warna biru hilang. Kerjakan duplo
Hitung normalitas natrium tiosulfat sampai 4 desimal dengan menggunakan rumus :

$$N \text{ (gram/L)} = \frac{W}{V \times Eq}$$

Keterangan:

N adalah normalitas natrium tiosulfat, dinyatakan dalam gram ekuivalen per liter (g/ek/L)

W adalah bobot kalium iodat, dinyatakan dalam miligram (mg)

V adalah volume larutan natrium tiosulfat yang digunakan untuk titrasi, dinyatakan dalam mililiter (mL)

Eq adalah berat ekuivalen dari kalium iodat

- Timbang 0,16 sampai dengan 0,22 g kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$) yang sudah dihaluskan dan dikeringkan (pada suhu $110^\circ C$) ke dalam Erlenmeyer 500 mL, dan larutkan dengan 25 mL air suling. Tambahkan 5 mL HCl pekat dan 20 mL larutan kalium iodida jenuh kemudian diaduk. Titar dengan natrium tiosulfat 0,1 N yang akan distandardisasi sampai warna kuning larutan hampir hilang. Tambahkan 1 sampai dengan 2 mL larutan kanji 1% dan titrasi dilanjutkan sampai warna biru hilang. Kerjakan duplo.

$$N = \frac{20,394 \times W}{V}$$

Keterangan:

N adalah konsentrasi natrium tiosulfat, dinyatakan dalam normalitas (N)

W adalah bobot kalium dikromat, dinyatakan dalam miligram (mg)

V adalah volume larutan natrium tiosulfat yang digunakan untuk titrasi, dinyatakan dalam mililiter (mL)

20,394 adalah konstanta.

- Apabila perbedaan hasil diantara dua penetapan lebih dari 0,000 4 maka lakukan triplo.
- e) larutan standar natrium tiosulfat 0,01 N; lakukan pengenceran larutan standar natrium tiosulfat 0,1 N untuk mendapatkan konsentrasi 0,01 N
- f) indikator larutan kanji 1 %; 1 g serbuk kanji dididihkan dengan 100 mL air suling dalam gelas piala.

A.5.4 Cara kerja

- timbang dengan teliti ($5 \pm 0,05$) g contoh (W) ke dalam Erlenmeyer asah 250 mL yang kering;
- tambahkan 50 mL larutan asam asetat glasial-isooktan, tutup erlenmeyer dan aduk hingga larutan homogen;
- tambahkan 0,5 mL larutan kalium iodida jenuh dengan menggunakan pipet ukur, kemudian kocok selama 1 menit;
- tambahkan 30 mL air suling kemudian tutup Erlenmeyer dengan segera. Kocok dan titar dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 N hingga warna kuning hampir hilang, kemudian tambahkan indikator kanji 0,5 mL dan lanjutkan penitrasi, kocok kuat untuk melepaskan semua iod dari lapisan pelarut hingga warna biru hilang;
- lakukan penetapan duplo;
- lakukan penetapan blanko;
- hitung bilangan peroksida dalam contoh.

A.5.5 Perhitungan

Bilangan peroksida dinyatakan sebagai milliekivalen O₂ per kg lemak yang dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Bilangan peroksida (mek O}_2\text{/kg)} = \frac{1\,000 \times N \times (V_0 - V_1)}{W}$$

Keterangan:

- N adalah normalitas larutan standar natrium tiosulfat 0,01 N, dinyatakan dalam normalitas, (N);
 V₀ adalah volume larutan natrium tiosulfat 0,1 N yang diperlukan pada penitrasi contoh, dinyatakan dalam mililiter (mL);
 V₁ adalah volume larutan natrium tiosulfat 0,1 N yang diperlukan pada penitrasi blanko, dinyatakan dalam mililiter (mL);
 W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).

A.6 Vitamin A

A.6.1 Prinsip

Standar dan contoh disabunkan dalam larutan basa etanol-air, dinetralkan, dan diencerkan, sehingga mengubah lemak menjadi asam lemak dan ester retinol menjadi retinol. Retinol dianalisis menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan detektor ultraviolet (UV) pada panjang gelombang 313 atau 328 nm.

A.6.2 Peralatan

- Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang dilengkapi dengan pompa bertekanan tinggi dengan laju alir 1,0 mL / min sampai dengan 20 mL/min, injektor, kolom *reversed-phase* C18, 10 µ (4,6 x 250 mm) *Lichosperc* 100 RP-18, detektor ultraviolet (UV) dengan panjang gelombang 328 nm, *recorder*, *integrator*, siring berukuran 0 µL sampai dengan 50 µL atau *autosampler*, sebagai alternatif bisa digunakan panjang gelombang 313 nm.
- neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg terkalibrasi;
- pemanas listrik;
- kondensor refluks;
- ultrasonik;
- Erlenmeyer berwarna gelap 125 mL;
- labu ukur 100 mL, 25 mL, dan 10 mL terkalibrasi;
- gelas ukur 50 mL; dan
- pipet ukur 5 mL, 2 mL, dan 1 mL terkalibrasi.

A.6.3 Pereaksi

- 1 Standar vitamin A asetat *Sigma* (ekivalen dengan 30 mg retinol/g minyak); atau
 2 Retinil palmitat, semua dalam bentuk trans
 Mintalah sertifikat analisis pada saat memesan, apabila sertifikat pabrik tidak ada, atau kemurnian standar perlu diverifikasi, ujilah kemurnian vitamin A palmitat sebagai berikut:
 Larutkan 50 ± 0,1 mg standar retinol palmitat dengan 2-propanol (*UV spectroscopy grade*) ke dalam labu ukur 500 ml dan encerkan sampai tanda garis. Encerkan 10 ml larutan standar ini menjadi 100 ml dengan 2-propanol (konsentrasi akhir kira-kira 10

mg/l). ukurlah absorbansi maksimum yang diperoleh pada panjang gelombang 325-328 nm menggunakan kuvet 1 cm, dan 2-propanol sebagai blanko. Hitung kemurnian retinol palmitat sebagai berikut:

$$\% \text{Kemurnian} = \frac{\text{ABS} \times 5 \times 10^6}{960 \times W} \text{ di mana:}$$

Keterangan:

ABS adalah maksimum absorbansi;
 960 adalah absorbansi retinol palmitat murni (larutan 1% dalam kuvet 1 cm);
 W adalah bobot bahan uji (standar yang diuji), dalam gram
 5×10^6 adalah faktor pengenceran gabungan, konversi ke larutan yang setara dengan 1% dan konversi ke %.

Simpan standar retinol palmitat pada suhu 0 - 4 °C.

- b) asam asetat glasial;
- c) metanol *HPLC grade*;
- d) etanol 95 %;
- e) tetrahidrofuran (THF);
- f) heksana
- g) kristal asam pirogalat;
- h) fase gerak: campurkan 860 mL metanol dan 140 mL aquabides, kocok, (hilangkan gas menggunakan ultrasonik);
- i) larutan tetrahidrofuran:etanol (50:50) sebanyak 1 L;
 campurkan 500 mL larutan tetrahidrofuran (THF) dan 500 mL etanol 95 %, kemudian kocok hingga homogen;
- j) larutan KOH 50 %;
 secara perlahan masukkan 500 g pellet KOH ke dalam 500 ml air yang terdapat dalam Erlenmeyer 2 liter berdinding tebal (Peringatan: Larutan mengeluarkan panas pada saat melarutkan KOH; tambahkan 100 gram KOH secara bertahap ke dalam Erlenmeyer sambil didinginkan dengan air dingin (es). Goyangkan Erlenmeyer perlahan-lahan untuk menghindari disolusi KOH. Simpan larutan KOH dalam wadah gelas dengan tutup gabus.

A.6.4 Cara kerja

A.6.4.1 Penyiapan larutan standar

A.6.4.1.1 Larutan baku standar vitamin A 15 µg/mL (50 IU/mL)

A.6.4.1.1.1 Menggunakan standar USP

- a) Timbang 50 mg vitamin A asetat dengan teliti ke dalam labu ukur berwarna gelap 100 mL;
- b) tambahkan sedikit aseton (kurang dari 3 mL) untuk membantu pelarutan;
- c) encerkan hingga tanda garis menggunakan etanol 95 %; dan
- d) simpan pada suhu 4 °C dalam ruang gelap (larutan ini stabil dalam 2 minggu).

A.6.4.1.1.2 Menggunakan retinil palmitat

- Timbang 55 mg retinil palmitat dengan teliti ke dalam labu ukur 100 ml berwarna gelap;
- tambahkan kira-kira 50 mg asam pirogalat, kemudian larutkan dan encerkan dengan heksana hingga tanda garis;
- pipet 5 ml larutan ke dalam labu ukur 100 ml berwarna gelap lainnya dan encerkan hingga tanda garis dengan etanol 95 %;
- simpan pada suhu 4 °C dalam ruang gelap, larutan ini stabil selama dua minggu.

A.6.4.1.2 Larutan deret standar vitamin A

- Pipet 5 mL larutan baku standar vitamin A 50 IU/mL ke dalam Erlenmeyer kemudian tambahkan 25 mL etanol 95% dan 50 mg asam pirogalat;
- pipet 2 mL larutan baku standar vitamin A 50 IU/mL ke dalam Erlenmeyer kemudian tambahkan 33 mL etanol 95% dan 50 mg asam pirogalat;
- pipet 0,5 mL larutan baku standar vitamin A 50 IU/mL ke dalam Erlenmeyer kemudian tambahkan 37,5 mL etanol 95% dan 50 mg asam pirogalat.

Tambahkan batu didih ke dalam setiap Erlenmeyer tersebut di atas.

A.6.4.2 Penyiapan contoh

- Timbang bahan uji sebanyak 2 g (W) (mengandung ± 50 μ g vitamin A) ke dalam Erlenmeyer dan tambahkan 40 mL etanol 95 %;
- tambahkan asam pirogalat (± 50 mg) sebagai antioksidan;
- goyang semua Erlenmeyer yang berisi larutan deret standar vitamin A dan contoh untuk memastikan semua bahan tercampur merata.

A.6.4.3 Ekstraksi dan penyabunan

- pipet 10 mL KOH 50 % ke dalam setiap Erlenmeyer, alirkan gas N₂ sebelum dan saat refluks (pemanasan) dan segera letakkan Erlenmeyer di atas pemanas listrik, hubungkan dengan kondensor, refluks selama 45 menit sambil digoyang tiap 10 menit. Angkat Erlenmeyer dari pemanas listrik, tutup dengan sumbat gabus, dan segera dinginkan sampai suhu kamar dengan menggunakan air dingin (air es);
- pipet 10 mL asam asetat glasial (gunakan "bulb") masukkan ke dalam setiap Erlenmeyer untuk menetralkan KOH;
- aduk rata dan biarkan dingin kembali sampai suhu ruang;
- pindahkan larutan ini dengan teliti ke dalam labu ukur berwarna gelap 100 mL dan tambahkan THF-etanol 95 % (50 : 50) sampai tanda tera dan tutup;
- bolak-balikkan labu sebanyak 10 kali. Biarkan labu selama 1 jam pada suhu kamar atau 1 malam di dalam lemari es untuk mengendapkan garam-garam dari asam lemak yang terbentuk selama proses penyabunan sehingga diperoleh hasil yang lebih baik. Dalam kasus tertentu, sentrifugasi dapat digunakan untuk mempercepat pengendapan;

A.6.4.4 Penetapan

- Nyalakan alat KCKT, biarkan stabil selama ± 30 menit, dengan fase gerak mengalir pada 1 mL/ menit;
- injeksikan larutan standar vitamin A yang telah melalui proses penyabunan;

- c) atur fase gerak untuk mendapatkan resolusi 1,5 atau lebih baik untuk bentuk cis dan trans. Semua trans retinol larut dalam waktu ± 9 menit. Cis retinol akan larut sebagai sebuah *peak* kecil sebelum terbentuk trans;
- d) injeksikan standar konsentrasi tinggi, sedang, dan rendah;
- e) atur sensitivitas detektor untuk memberikan *peak* 50 % sampai dengan 90 % dari skala penuh untuk standar konsentrasi tinggi;
- f) ulangi injeksi standar sampai diperoleh puncak tertinggi.;
- g) injeksikan larutan contoh diselingi dengan injeksi standar tiap 9 kali pengujian; dan
- h) jika retinol di dalam contoh uji melebihi *peak* standar konsentrasi tinggi sebanyak $> 25\%$, larutkan contoh menggunakan larutan 10 mL KOH 50 %, 40 mL etanol 96 %, 10 mL asam asetat glasial, dan 40 mL THF- etanol 95 % (50 : 50).

A.6.4.5 Perhitungan

Tentukan faktor respon untuk menggunakan standar USP dengan rumus:

$$RFA = \frac{\text{mg}_{\text{std}} \times \text{mL}_{\text{std}} \times C_{\text{std}}}{PKHT_{\text{std}} \times 10\,000}$$

Keterangan:

mg _{std}	adalah bobot standard, dinyatakan dalam milligram (mg);
mL _{std}	adalah volume injeksi, dinyatakan dalam milliliter (mL);
C _{std}	adalah konsentrasi standar;
PKHT _{std}	adalah <i>peak area</i> standar.
10 000	adalah faktor pengenceran gabungan

Menggunakan retinil palmitat:

Tetapkan faktor respon dengan rumus sebagai berikut:

$$RFA = \frac{\text{mg}_{\text{std}} \times \text{mL}_{\text{std}} \times \text{kemurnian}_{\text{std}} \times 0,5458}{P_{\text{k}} \text{Ht}_{\text{std}} \times 10\,000}$$

Keterangan:

kemurnian _{std}	adalah persen kemurnian yang terdapat pada sertifikat dari supplier atau dengan cara ditetapkan, dibagi 100;
mg _{std}	adalah bobot retinil palmitat, dinyatakan dalam miligram (mL);
PKHt _{std}	adalah tinggi atau area <i>peak</i> standar dari kromatogram;
mL _{std}	adalah standar kerja yang digunakan dalam prosedur, dinyatakan dalam milliliter (mL);
0,5458	adalah perbandingan bobot molekul retinol terhadap retinil palmitat;
200	adalah faktor pengenceran gabungan/konversi mg ke μg .

Nilai RFA standar dengan konsentrasi rendah, sedang, dan tinggi harus sesuai satu sama lain dengan relatif 3% karena respon detektor harus linier terhadap kisaran konsentrasi. Gunakan rata-rata nilai RFA yang dihitung dari standar dengan konsentrasi tinggi, sedang dan rendah untuk menguji kuantitasi contoh.

Ukurlah tinggi atau area *peak* retinol (vitamin A) dalam ekstrak contoh. Isomer 13-cis retinol mungkin terkandung dalam beberapa contoh. Ukurlah *peak* 13-cis. Kalikan tinggi atau area *peak* 13-cis retinol dengan 1,08 (sebagai kompensasi terhadap perbedaan absorbansi yang dibandingkan dengan isomer trans).

Tambahkan tinggi atau area peak 13-cis isomer yang telah dikoreksi tersebut pada semua isomer trans guna mendapatkan total tinggi atau area peak contoh.
Hitunglah konsentrasi vitamin A (dalam $\mu\text{g/g}$ sebagai retinol) dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Vitamin A (}\mu\text{g/g) sebagai retinol} = \frac{RF_A \times PkHT_{sp} \times fp}{w}$$

Keterangan:

RF_A adalah faktor respon;
 $PkHT_{sp}$ adalah luas area contoh;
 Fp adalah faktor pengenceran
 W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).

Sebagai alternatif, dapat juga digunakan kalibrasi 3 tingkatan menggunakan polinomial orde nol.

A.6.4.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 10 % dari nilai rata-rata hasil kandungan vitamin A. Jika kisaran lebih besar dari 10 %, maka analisis harus diulang kembali.

A.7 Minyak pelikan**A.7.1 prinsip**

minyak mineral bersifat tidak dapat disabunkan dalam larutan basa alkohol-air.

A.7.2 Peralatan

- a) Tabung reaksi;
- b) penangas air yang dilengkapi dengan pendingin tegak; dan
- c) pipet, terkalibrasi
- d) Erlenmeyer 250 mL; dan
- e) Gelas ukur 50 mL terkalibrasi

A.7.3 Peraksi

- a) Etanol 95 %; dan
- b) larutan KOH 0,5 N dalam etanol.

A.7.4 Cara kerja

- a) Ambil dengan seksama 1 mL contoh dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian tambahkan 1 mL KOH (3 + 2) dan 25 mL alkohol, didihkan dengan menggunakan pendingin tegak, kocok sekali-kali hingga terbentuk penyabunan (lebih kurang 5 menit);
- b) tambahkan 25 mL air, jika larutan menjadi keruh menandakan adanya minyak pelikan.

A.7.5 Cara menyatakan hasil

- a) Jika larutan menjadi keruh, maka hasil dinyatakan "positif"; dan
- b) jika larutan tidak menjadi keruh, maka hasil dinyatakan "negatif".

A.8 Cemarkan logam

A.8.1 Kadmium (Cd) dan timbal (Pb)

A.8.1.1 Prinsip

Destruksi contoh dengan cara pengabuan kering pada suhu 450 °C yang dilanjutkan dengan pelarutan dalam larutan asam. Logam yang terlarut dihitung menggunakan alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) dengan panjang gelombang maksimal 228,8 nm untuk Cd dan 283,3 nm untuk Pb.

A.8.1.2 Peralatan

- Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) beserta kelengkapannya (lampu katoda Cd dan Pb) terkalibrasi (sebaiknya menggunakan SSA tungku grafit);
- tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- pemanas listrik;
- penangas air;
- pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret terkalibrasi;
- labu ukur 1 000 mL, 100 mL, dan 50 mL terkalibrasi;
- gelas ukur 10 mL terkalibrasi;
- gelas piala 250 mL;
- botol polipropilen;
- cawan porselen/platina/kuarsa 50 mL sampai dengan 100 mL; dan
- kertas saring tidak berabu dengan spesifikasi *particle retention liquid* 20 µm sampai dengan 25 µm.

A.8.1.3 Pereaksi

- asam nitrat, HNO₃ pekat;
- asam klorida, HCl pekat;
- larutan asam nitrat, HNO₃ 0,1 N;
encerkan 7 mL HNO₃ pekat dengan aquabides dalam labu ukur 1 000 mL sampai tanda garis.
- larutan asam klorida, HCl 6 N;
encerkan 500 mL HCl pekat dengan aquabides dalam labu ukur 1 000 mL sampai tanda garis.
- larutan baku 1 000 µg/mL Cd;
larutkan 1,000 g Cd dengan 7 mL HNO₃ pekat dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 1 000 mL kemudian encerkan dengan aquabides sampai tanda garis, atau bisa digunakan larutan baku Cd 1 000 µg/mL siap pakai.
- larutan baku 200 µg/mL Cd;
pipet 10 mL larutan baku 1 000 µg/mL Cd ke dalam labu ukur 50 mL kemudian encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian dikocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 200 µg/mL Cd.

- g) larutan baku 20 µg/mL Cd;
pipet 10 mL larutan baku 200 µg/mL Cd ke dalam labu ukur 100 mL kemudian encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian dikocok. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 20 µg/mL Cd.
- h) larutan baku kerja Cd;
pipet ke dalam labu ukur 100 mL masing-masing sebanyak 0 mL, 0,5 mL, 1 mL; 2 mL; 4 mL; 7 mL dan 9 mL larutan baku 20 µg/mL kemudian tambahkan 5 mL larutan HNO₃ 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/mL; 0,1 µg/mL; 0,2 µg/mL; 0,4 µg/mL; 0,8 µg/mL; 1,4 µg/mL dan 1,8 µg/mL Cd.
- i) larutan baku 1 000 µg/mL Pb;
larutkan 1,000 g Pb dengan 7 mL HNO₃ pekat dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 1 000 mL kemudian encerkan dengan aquabides sampai tanda garis, atau bisa digunakan larutan baku Pb 1000 µg/mL siap pakai.
- j) larutan baku 50 µg/mL Pb; dan
pipet 5,0 mL larutan baku 1 000 µg/mL Pb ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi Pb 50 µg/mL.
- k) larutan baku kerja Pb;
pipet ke dalam labu ukur 100 mL masing-masing sebanyak 0 mL, 0,2 mL; 0,5 mL; 1 mL; 2 mL; 3 mL dan 4 mL larutan baku 50 µg/mL kemudian tambahkan 5 mL larutan HNO₃ 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/mL; 0,1 µg/mL; 0,25 µg/mL; 0,5 µg/mL; 1,0 µg/mL; 1,5 µg/mL dan 2,0 µg/mL Pb.

A.8.1.4 Cara kerja

- a) Timbang 10 g sampai dengan 20 g contoh (W) dengan teliti dalam cawan porselen/ platina/ kuarsa;
- b) tempatkan cawan berisi contoh uji di atas pemanas listrik dan panaskan secara bertahap sampai contoh uji tidak berasap lagi;
- c) lanjutkan pengabuan dalam tanur (450 ± 5) °C sampai abu berwarna putih, bebas dari karbon;
- d) apabila abu belum bebas dari karbon yang ditandai dengan warna keabu-abuan, basahkan dengan beberapa tetes air dan tambahkan tetes demi tetes HNO₃ pekat kira-kira 0,5 mL sampai dengan 3 mL;
- e) keringkan cawan di atas pemanas listrik dan masukkan kembali ke dalam tanur pada suhu (450 ± 5) °C kemudian lanjutkan pemanasan sampai abu menjadi putih. Penambahan HNO₃ pekat dapat diulangi apabila abu masih berwarna keabu-abuan;
- f) larutkan abu berwarna putih dalam 5 mL HCl 6 N, sambil dipanaskan di atas pemanas listrik atau penangas air sampai kering, kemudian larutkan dengan 30 mL HNO₃ 0,1 N dan masukkan ke dalam labu ukur 50 mL kemudian tepatkan hingga tanda garis dengan aquabides (V), jika perlu, saring larutan menggunakan kertas saring ke dalam botol polipropilen;
- g) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- h) baca absorbans larutan baku kerja dan larutan contoh terhadap blanko menggunakan SSA pada panjang gelombang maksimal sekitar 228,8 nm untuk Cd dan 283,3 nm untuk Pb;

- i) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- j) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C); dan
- k) hitung kandungan logam dalam contoh.

A.8.1.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan logam (mg/kg)} = \frac{C}{W} \times V$$

Keterangan:

C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter ($\mu\text{g/mL}$);
 V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL); dan
 W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).

A.8.1.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16 % dari nilai rata-rata hasil kandungan logam. Jika kisaran lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

A.8.2 Timah (Sn)

A.8.2.1 Prinsip

Contoh didestruksi dengan HNO_3 dan HCl kemudian tambahkan KCl untuk mengurangi gangguan. Sn dibaca menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang maksimal 235,5 nm dengan nyala oksidasi $\text{N}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2$.

A.8.2.2 Peralatan

- a) Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) beserta kelengkapannya (lampu katoda Sn) terkalibrasi;
- b) tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;
- c) neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- d) pemanas listrik;
- e) penangas air;
- f) labu ukur 1 000 mL, 100 mL, dan 50 mL terkalibrasi;
- g) pipet ukur 10 mL dan 5 mL berskala 0,1 mL, terkalibrasi;
- h) Erlenmeyer 250 mL;
- i) gelas ukur 50 mL terkalibrasi; dan
- j) gelas piala 250 mL.

A.8.2.3 Pereaksi

- a) Larutan kalium klorida, 10 mg/mL K;
larutkan 1,91 g KCl dengan air menjadi 100 mL.
- b) asam nitrat pekat, HNO_3 pekat;
- c) asam klorida pekat, HCl pekat;

- d) larutan baku 1 000 µg/mL Sn; dan
larutkan 1,000 mg Sn dengan 200 mL HCl pekat dalam labu ukur 1 000 mL, tambahkan 200 mL air suling, dinginkan pada suhu ruang dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- e) larutan baku kerja Sn.
pipet 10 mL HCl pekat dan 1,0 mL larutan KCl ke dalam masing-masing labu ukur 100 mL. Tambahkan masing-masing 0 mL; 0,5 mL; 1,0 mL; 1,5 mL; 2,0 mL dan 2,5 mL larutan baku 1 000 µg/mL Sn dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/mL; 5 µg/mL; 10 µg/mL; 15 µg/mL; 20 µg/mL dan 25 µg/mL Sn.

A.8.2.4 Cara kerja

- a) Timbang 10 g sampai dengan 20 g (W) dengan teliti ke dalam Erlenmeyer 250 mL, tambahkan 30 mL HNO₃ pekat dan biarkan 15 menit;
- b) panaskan perlahan selama 15 menit di dalam lemari asam, hindari terjadinya percikan yang berlebihan;
- c) lanjutkan pemanasan sehingga sisa volume 3 mL sampai dengan 6 mL atau sampai contoh mulai kering pada bagian bawahnya, hindari terbentuknya arang;
- d) angkat Erlenmeyer dari pemanas listrik, tambahkan 25 mL HCl pekat, dan panaskan selama 15 menit sampai letupan dari uap Cl₂ berhenti;
- e) tingkatkan pemanasan dan didihkan sehingga sisa volume 10 mL sampai dengan 15 mL;
- f) tambahkan 40 mL air suling, aduk, dan tuangkan ke dalam labu ukur 100 mL, bilas Erlenmeyer tersebut dengan 10 mL air suling (V);
- g) tambahkan 1,0 mL KCl, dinginkan pada suhu ruang, tepatkan dengan air suling sampai tanda garis dan saring;
- h) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- i) baca absorbans larutan baku kerja dan larutan contoh terhadap blanko menggunakan SSA pada panjang gelombang maksimal 235,5 nm dengan nyala oksidasi N₂O-C₂H₂;
- j) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (µg/mL) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- k) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- l) lakukan pengerjaan duplo; dan
- m) hitung kandungan Sn dalam contoh.

A.8.2.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan logam (Sn) (mg/kg)} = \frac{C}{W} \times V$$

Keterangan:

- C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL)
- V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
- W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).

A.8.2.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16% dari nilai rata-rata hasil kandungan timah (Sn). Jika kisaran lebih besar dari 16%, maka uji harus diulang kembali.

A.8.3 Merkuri (Hg)

A.8.3.1 Prinsip

Reaksi antara senyawa merkuri dengan NaBH_4 atau SnCl_2 dalam keadaan asam akan membentuk gas atomik Hg. Jumlah Hg yang terbentuk sebanding dengan absorbans Hg yang dibaca menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) tanpa nyala pada panjang gelombang maksimal 253,7 nm.

A.8.3.2 Peralatan

- Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) yang dilengkapi lampu katoda Hg dan generator uap hidrida (HVG);
- microwave digester*;
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- pemanas listrik;
- pendingin terbuat dari borosilikat, diameter 12 mm sampai dengan 18 mm, tinggi 400 mm diisi dengan cincin *Raschig* setinggi 100 mm, dan dilapisi dengan batu didih berdiameter 4 mm di atas cincin setinggi 20 mm;
- tabung destruksi;
- labu destruksi 250 mL berdasar bulat;
- labu ukur 1 000 mL, 500 mL, 100 mL dan 50 mL terkalibrasi;
- gelas ukur 25 mL terkalibrasi;
- pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret terkalibrasi; dan
- gelas piala 500 mL.

A.8.3.3 Pereaksi

- Larutan asam sulfat, H_2SO_4 9 M;
- larutan asam nitrat, HNO_3 7 M;
- campuran HNO_3 : HClO_4 (1:1);
- hidrogen peroksida, H_2O_2 pekat;
- larutan natrium molibdat, $\text{NaMoO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2 %;
- larutan pereduksi;
campurkan 50 mL H_2SO_4 dengan 300 mL air suling dalam gelas piala 500 mL dan dinginkan sampai suhu ruang kemudian tambahkan 15 g NaCl, 15 g hidroksilamin sulfat, dan 25 g SnCl_2 . Pindahkan kedalam labu ukur 500 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- larutan natrium borohidrida, NaBH_4 ;
larutkan 3 g serbuk NaBH_4 dan 3 g NaOH dengan air suling dalam labu ukur 500 mL.
- larutan pengencer;

masukkan 300 mL sampai dengan 500 mL air suling kedalam labu ukur 1 000 mL dan tambahkan 58 mL HNO_3 kemudian tambahkan 67 mL H_2SO_4 . Encerkan dengan air suling sampai tanda garis dan kocok.

- i) larutan baku 1 000 $\mu\text{g/mL}$ Hg;
larutkan 0,135 4 g HgCl_2 dengan kira-kira 25 mL air suling dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- j) larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ Hg;
pipet 1 mL larutan baku 1 000 $\mu\text{g/mL}$ Hg ke dalam labu ukur 1 000 mL dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$.
- k) larutan baku kerja Hg; dan
pipet masing-masing 0,25 mL; 0,5 mL; 1 mL; dan 2 mL larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ ke dalam labu ukur 100 mL terpisah dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,002 5 $\mu\text{g/mL}$; 0,005 $\mu\text{g/mL}$; 0,01 $\mu\text{g/mL}$; 0,02 $\mu\text{g/mL}$ Hg.
- l) batu didih.

A.8.3.4 Cara kerja

A.8.3.4.1 Pengabuan basah

- a) Timbang 5 g contoh (W) dengan teliti ke dalam labu destruksi dan tambahkan 25 mL H_2SO_4 9 M, 20 mL HNO_3 7 M, 1 mL larutan natrium molibdat 2 %, dan 5 butir sampai dengan 6 butir batu didih;
- b) hubungkan labu destruksi dengan pendingin dan panaskan di atas pemanas listrik selama 1 jam. Hentikan pemanasan dan biarkan selama 15 menit;
- c) tambahkan 20 mL campuran HNO_3 : HClO_4 (1:1) melalui pendingin;
- d) hentikan aliran air pada pendingin dan panaskan dengan panas tinggi hingga timbul uap putih. Lanjutkan pemanasan selama 10 menit dan dinginkan;
- e) tambahkan 10 mL air suling melalui pendingin dengan hati-hati sambil labu digoyang-goyangkan;
- f) didihkan lagi selama 10 menit;
- g) matikan pemanas dan cuci pendingin dengan 15 mL air suling sebanyak 3 kali kemudian dinginkan sampai suhu ruang;
- h) pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 100 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- i) pipet 25 mL larutan di atas ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis;
- j) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- k) tambahkan larutan pereduksi ke dalam larutan baku kerja Hg, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;
- l) baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 253,7 nm;
- m) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;

- n) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- o) lakukan pengerjaan duplo; dan
- p) hitung kandungan Hg dalam contoh.

A.8.3.4.2 Destruksi menggunakan *microwave digester* atau destruksi sistem tertutup

- a) Timbang 1 g contoh (W) ke dalam tabung destruksi dan tambahkan 5 mL HNO₃, 1 mL H₂O₂ kemudian tutup rapat;
- b) masukkan ke dalam *microwave digester* dan kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat;
- c) pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 50 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- d) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- e) tambahkan larutan pereduksi ke dalam larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;
- f) baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 253,7 nm;
- g) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (µg/mL) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- h) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- i) lakukan pengerjaan duplo; dan
- j) hitung kandungan Hg dalam contoh.

A.8.3.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan merkuri (Hg) (mg/kg)} = \frac{C}{W} \times V \times fp$$

Keterangan:

- C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL);
- V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
- W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);
- fp adalah faktor pengenceran.

A.8.3.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16 % dari nilai rata-rata hasil kandungan merkuri (Hg). Jika kisaran lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

A.9 Cemarkan arsen (As)

A.9.1 Prinsip

Contoh didestruksi dengan asam menjadi larutan arsen. Larutan As⁵⁺ direduksi dengan KI menjadi As³⁺ dan direaksikan dengan NaBH₄ atau SnCl₂ sehingga terbentuk AsH₃ yang kemudian dibaca dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang maksimal 193,7 nm.

A.9.2 Peralatan

- a) Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) yang dilengkapi dengan lampu katoda As dan generator uap hidrida (HVG) terkalibrasi;
- b) tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;
- c) *microwave digester*;
- d) neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- e) pemanas listrik;
- f) *burner* atau *bunsen*;
- g) labu *Kjeldahl* 250 mL;
- h) labu berbahan borosilikat berdasar bulat 50 mL;
- i) labu ukur 50 mL, 100 mL, 500 mL, dan 1 000 mL terkalibrasi;
- j) gelas ukur 25 mL terkalibrasi;
- k) pipet volumetrik 25 mL terkalibrasi;
- l) pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret terkalibrasi;
- m) cawan porselen 50 mL; dan
- n) gelas piala 200 mL.

A.9.3 Pereaksi

- a) Asam nitrat, HNO_3 pekat;
- b) asam sulfat, H_2SO_4 pekat;
- c) asam perklorat, HClO_4 pekat;
- d) ammonium oksalat; $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ jenuh
- e) hidrogen peroksida, H_2O_2 pekat;
- f) larutan natrium borohidrida, NaBH_4 4 %;
larutkan 3 g NaBH_4 dan 3 g NaOH dengan air suling sampai tanda garis kedalam labu ukur 500 mL.
- g) larutan asam klorida, HCl 8 M;
larutkan 66 mL HCl pekat kedalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- h) larutan timah (II) klorida, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 %;
timbang 50 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ke dalam gelas piala 200 mL dan tambahkan 100 mL HCl 37%. Panaskan hingga larutan jernih dan dinginkan kemudian tuangkan ke dalam labu ukur 500 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- i) larutan kalium iodida, KI 20 %;
timbang 20 g KI ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (larutan harus dibuat langsung sebelum digunakan).
- j) larutan $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 75 mg/mL;
Larutkan 3,75 g MgO dengan 30 mL H_2O secara hati-hati, tambahkan 10 mL HNO_3 , dinginkan dan encerkan hingga 50 mL dengan air suling;

- k) larutan baku 1 000 $\mu\text{g/mL}$ As;
larutkan 1,3203 g As_2O_3 kering dengan sedikit NaOH 20% dan netralkan dengan HCl atau HNO_3 1:1 (1 bagian asam : 1 bagian air). Masukkan ke dalam labu ukur 1 000 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- l) larutan baku 100 $\mu\text{g/mL}$ As;
pipet 10 mL larutan baku As 1 000 $\mu\text{g/mL}$ ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ As.
- m) larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ As; dan
pipet 1 mL larutan baku As 100 $\mu\text{g/mL}$ ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ As.
- n) larutan baku kerja As.
pipet masing-masing 1,0 mL; 2,0 mL; 3,0 mL; 4,0 mL dan 5,0 mL larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ As ke dalam labu ukur 100 mL terpisah dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,01 $\mu\text{g/mL}$; 0,02 $\mu\text{g/mL}$; 0,03 $\mu\text{g/mL}$; 0,04 $\mu\text{g/mL}$ dan 0,05 $\mu\text{g/mL}$ As.

A.9.4 Cara kerja

A.9.4.1 Pengabuan basah

- a) Timbang 5 g sampai dengan 10 g contoh (W) kedalam labu Kjeldahl 250 mL, tambahkan 5 mL sampai dengan 10 mL HNO_3 pekat dan 4 mL sampai dengan 8 mL H_2SO_4 pekat dengan hati-hati;
- b) setelah reaksi selesai, panaskan dan tambahkan HNO_3 pekat sedikit demi sedikit sehingga contoh berwarna coklat atau kehitaman;
- c) tambahkan 2 mL HClO_4 70 % sedikit demi sedikit dan panaskan lagi sehingga larutan menjadi jernih atau berwarna kuning (jika terjadi pengarangan setelah penambahan HClO_4 , tambahkan lagi sedikit HNO_3 pekat),
- d) dinginkan, tambahkan 15 mL H_2O dan 5 mL $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ jenuh;
- e) panaskan sehingga timbul uap SO_3 di leher labu;
- f) dinginkan, pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 50 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- g) pipet 25 mL larutan diatas dan tambahkan 2 mL HCl 8 M, 0,1 mL KI 20% kemudian kocok dan biarkan minimal 2 menit;
- h) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- i) tambahkan larutan pereduksi (NaBH_4) ke dalam larutan baku kerja As, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;
- j) baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang maksimal 193,7 nm;
- k) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- l) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- m) lakukan pengerjaan duplo; dan
- n) hitung kandungan As dalam contoh.

A.9.4.2 Destruksi menggunakan *microwave digester* atau destruksi sistem tertutup

- Timbang 1 g contoh (W) ke dalam tabung destruksi dan tambahkan 5 mL HNO₃, 1 mL H₂O₂ kemudian tutup rapat;
- masukkan ke dalam *microwave digester* dan kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat;
- setelah dingin, pindahkan larutan destruksi ke dalam labu ukur 25 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- pipet 10 mL larutan destruksi ke dalam labu borosilikat berdasar bulat 50 mL, tambahkan 1 mL larutan Mg(NO₃)₂, Uapkan di atas pemanas listrik hingga kering dan arangkan. Abukan dalam tanur dengan suhu 450 °C (± 1 jam);
- dinginkan, larutkan dengan 2,0 mL HCl 8 M, 0,1 mL KI 20 % dan biarkan minimal 2 menit. Tuangkan larutan tersebut ke dalam tabung contoh pada alat;
- siapkan NaBH₄ dan HCl dalam tempat yang sesuai dengan yang ditentukan oleh alat;
- tuangkan larutan baku kerja As 0,01 µg/mL; 0,02 µg/mL; 0,03 µg/mL; 0,04 µg/mL; 0,05 µg/mL serta blanko ke dalam 6 tabung contoh lainnya. Nyalakan *burner* atau *bunsen* serta tombol pengatur aliran pereaksi dan aliran contoh;
- baca nilai absorbans tertinggi larutan baku kerja As dan contoh dengan blanko sebagai koreksi;
- buat kurva kalibrasi antara konsentrasi As (µg/mL) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- lakukan pengerjaan duplo; dan
- hitung kandungan As dalam contoh.

A.9.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan cemaran arsen (As) (mg/kg)} = \frac{C}{W} \times V \times fp$$

Keterangan:

- C adalah konsentrasi cemaran As dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL)
 V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
 W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);
 fp adalah faktor pengenceran.

A.9.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16 % dari nilai rata-rata hasil kandungan arsen (As). Jika kisaran lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

Bibliografi

- American Oil Chemists' Society. 1993. *AOCS Official Method Cc 13b-45, Color, Wesson Method Using Color glasses Calibrated in Accordance with the AOCS tintometer Color Scale*. AOCS Press.
- American Oil Chemists' Society. 1993. *AOCS Official Method Ca 2c-25, Moisture and Volatile Matter-Air Oven Method*. AOCS Press.
- American Oil Chemists' Society. 1993. *AOCS Official Method Ca 5a-40, Free fatty acids*. AOCS Press.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 945.102, Oil (Mineral) in Fats*, 18th Edition, Chapter 41.1.21.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 2001.13, Vitamin A (Retinol) in Food*, 18th Edition, Chapter 45.1.34.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 986.15, Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods, Multielement Method*, 18th Edition, Chapter 9.1.01.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 999.11, Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in Foods: Atomic Absorption Spectrophotometry after Dry Ashing*, 18th Edition, Chapter 9.1.09.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 971.21, Mercury in Foods, Flameless Atomic Absorption Spectrophotometric Method*, 18th Edition, Chapter 9.2.22.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 985.61, Tin in Canned Foods, Atomic Absorption Spectrophotometric Method*, 18th Edition, Chapter 9.2.35.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2006. *Kategori Pangan*. Kategori Pangan 05.0.
- SNI 7387:2009, Batas maksimum cemaran logam berat dalam pangan